УДК 595.422:541.43+591.461.1

И. С. Старовир

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ГИСТОЛОГИЯ ПРОЦЕССА ПИЩЕВАРЕНИЯ У ЛИЧИНОК, ПРОТОНИМФ И ПРОТОХРИЗОЛИД КЛЕЩА VARROA JACOBSONI (PARASITIFORMES, VARROIDAE)

Несмотря на все возрастающий интерес исследователей к биологии клеща, строение и функция его пищеварительной системы изучены еще недостаточно (Акимов, Старовир, 1983). Задачей настоящего исследования было изучение морфологических особенностей кишечника личинок, протонимф и протохризолид и морфофункциональных изменений клеток эпителия в процессе пищеварения.

Материал и методика. В работе использованы личинки, протонимфы и протохризолиды клеща *V. jacobsoni,* собранные из трутневого расплода пчел на пасеке Института зоологии АН УССР. Для гистологического исследования их фиксировали в фиксаторах Буэна, Бэкэра, Шабадаша и Карнуа, обезвоживали спиртами, проводили через метилбензоат, заливали в парафин и изготовляли срезы толщиной 5—6 мкм. Срезы окрашивали на белки бромфеноловым синим с сулемой и бромфеноловым синим на абсолютном ацетоне с уксусной кислотой; липиды — суданом черным В по Мак-Манусу, суданом черным В в абсолютном ацетоне по Беренбауму; углеводы — шифф-йодной кислотой (ШИК), по методу Шабадаша, Мак-Манусу, Бэста и альциановым синим по методу Стидмена (Ромейс, 1954, Роскин, Левенсон, 1957; Пирс, 1962, Кононский, 1976).

Результаты исследования. Сравнение серий гистологических срезов позволило изучить морфологические изменения эпителиальных клеток кишечника у личинок, протонимф и протохризолид клеща *V. jacobsoni* в процессе переваривания ими пищи. При изучении гистологических срезов кишечника сытых личинок, протонимф и протохризолид выяснено, что эпителиальные клетки кишечника обладают большим количеством различных включений, наличие которых вероятно, связано с внутриклеточным перевариванием поглощенной пищи. У сытых личинок, протонимф и протохризолид на разных этапах пищеварительного процесса клетки эпителия кишечника имеют цилиндрическую, колбовидную и плоскую форму, что позволило условно разделить их на три типа: секреторные, пищеварительные и резервные.

У сытых личинок эпителиальные клетки кишечника в основном пищеварительные, и только небольшое количество клеток — резервные. Секреторные клетки в кишечнике нами не обнаружены. Возможно, у сытых личинок происходит очень быстрое превращение секреторных клеток в пищеварительные и массовое отшнурование отдельных клеток в просвет кишечника за счет быстрого переваривания содержимого, которое обусловлено очень коротким периодом превращения личинки в протонимфу. В кишечнике перелинявшей личинки содержится большое количество запасных питательных веществ в сохранившихся пищеварительных клетках. Пищевые включения в клетках эпителия личинок полностью не израсходованы. Пищеварительные клетки кишечника личинки цилиндрические, изредка колбовидной формы, крупные (высота 11,4—36,7 мкм), с расширенными апикальными поверхностями. Границы между эпителиальными клетками нами не обнаружены. Цитоплазма их неплотная, слабо вакуолизирована, незернистая, с небольшим количеством включений, слабо окрашена. Однако в вакуолях пищеварительных клеток расположены шаровидные, изредка овальные гранулы вещества белковой, белково-липидной и белково-углеводной природы. Они окрашиваются азаном в красный, коричневый, синий, желтый с различными оттенками, а железным гематоксилином — в черный цвет, бромфеноловым синим с сулемой, бромфеноловым синим на абсолютном ацетоне с уксусной кислотой и амидочерным В — синий, голубой с фиолетовым оттенком, что характерно для веществ белковой природы. Окраска гранул суданом дает черный, сероватый или черно-серый цвета, что характерно для белково-липидных включений. Кроме того, в пищеварительных клетках эпителия кишечника личинки выявлены пищевые включения белково-углеводной природы, которые окрашиваются реактивом Шиффа

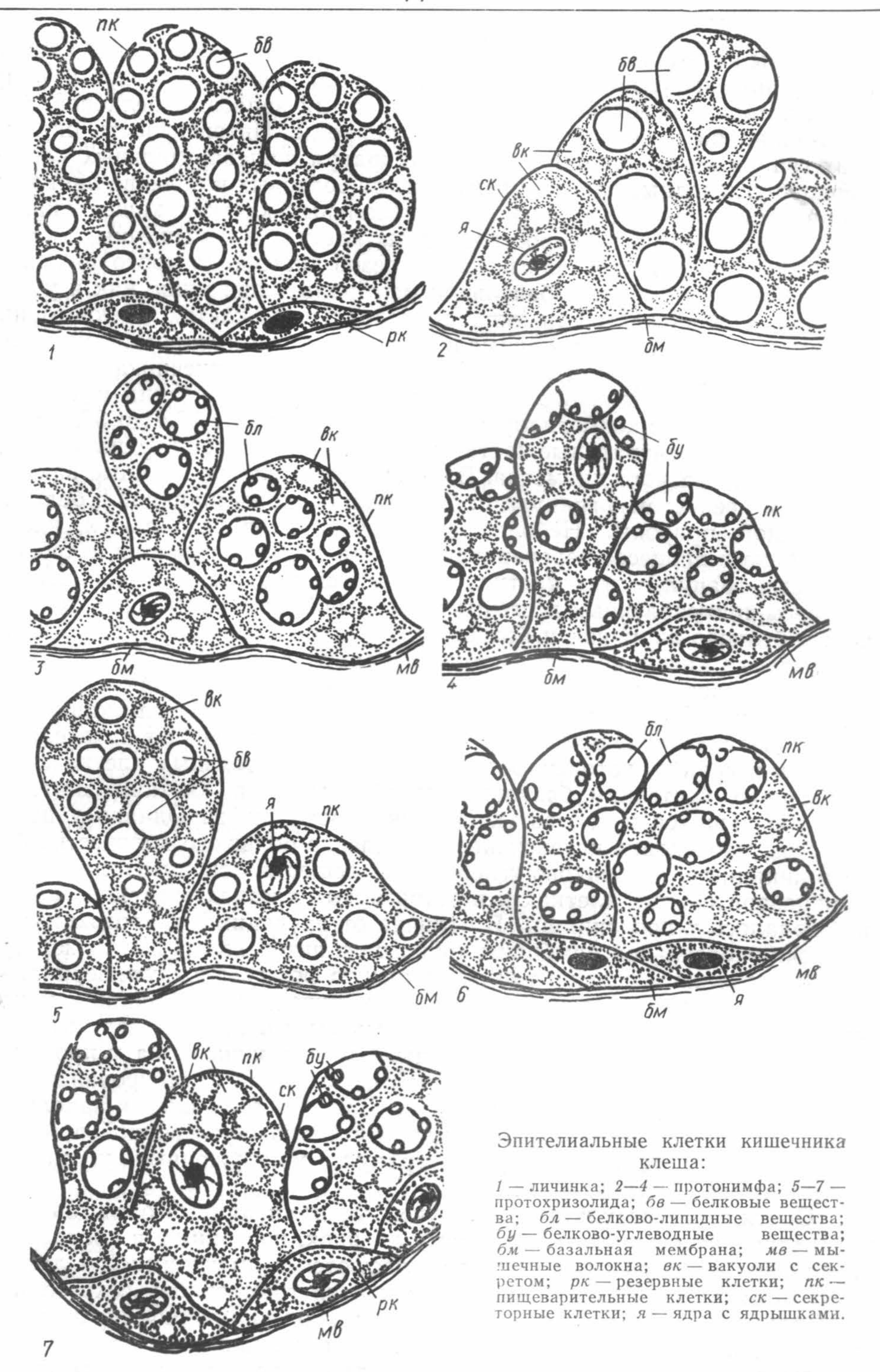
и кармином в красный, темно-красный и ярко-красный с различными оттенками, характерными для гликогена, глюкопротеидов и мукополисахаридов. При обработке диастазой гранулы не исчезают. Все это указывает на белково-углеводную природу пищевых гранул. Интенсивность окраски гранул различной природы зависит от их плотности. Пищевые гранулы с плотной поверхностью окрашиваются в яркие, а с менее плотной поверхностью — в менее интенсивные цвета. Ядра с ядрышками в клетках кишечного эпителия нами не обнаружены. Возможно, они замаскированы пищевыми гранулами белковой, белково-липидной и белково-углеводной природы. В основном пищевые гранулы многочисленны и заполняют всю периферическую поверхность клетки. Просвет кишечника у личинки заполнен многочисленными пищевыми гранулами белковой, белково-липидной и белково-углеводной природы, которые окрашиваются согласно описанным методикам в те же цвета, что и пищевые гранулы пищеварительных клеток кишечника (рисунок, *1*).

На базальной мембране кишечника личинок расположены единичные резервные клетки плоской формы. Цитоплазма их плотная, зернистая, вакуолизирована мелкими вакуолями, окрашена. Ядра с ядрышками овальные, вздутые, расположены в центральной части клетки, окрашены (рисунок, *1*).

У протонимф пищеварение происходит в основном так же, как и у личинки. В кишечнике протонимфы остается большое количество запасных питательных веществ, заключенных в пищеварительных клетках эпителия, и в клетках, отшнуровавшихся в просвет кишечника личинки. На стенках базальной мембраны кишечника у протонимфы различаются секреторные, пищеварительные и резервные клетки эпителия.

Секреторные эпителиальные клетки крупные (высота 12,5—35,7 мкм), немногочисленные, имеют цилиндрическую или колбовидную форму. По морфологическому строению в них можно выделить апикальную, центральную и базальную части. Цитоплазма базальной части заполнена мелкими вакуолями с секретом, окрашена. Цитоплазма апикальной и центральной частей вакуолизирована крупными вакуолями, образовавшимися от слияния мелких. Крупные вакуоли заполнены большим количеством включений и секретом. В процессе переваривания пищи апикальные и центральные части некоторых клеток отрываются от базальной части в просвет кишечника. Отделившиеся части клеток можно наблюдать в содержимом полости кишечника протонимфы. Таким способом осуществляется макроапокриновая секреция пищеварительных ферментов. Пищеварительные ферменты могут выделяться и по мерокриновому способу. Как правило, в клетках эпителия происходит разрыв клеточной оболочки, содержимое апикальной части вакуолей клетки выходит в просвет кишечника и смешивается с его содержимым. Характерно, что секреция по мерокриновому типу осуществляется и на тех участках клетки, которые вскоре должны отшнуроваться от базальной части клетки. Это свидетельствует о том, что апокриновая секреция всегда сопровождается секрецией мерокринового типа.

При поступлении первых порций пищи в кишечник протонимф происходит очень быстрое превращение секреторных клеток в пищеварительные цилиндрической или колбовидной формы. Размеры их практически не отличаются от размеров секреторных клеток (высота от 10,7 до 36,5 мкм). В процессе переваривания пищи в вакуолях пищеварительных клеток накапливается большое количество секрета, что приводит к слиянию мелких вакуолей в крупные, и на их месте формируются гранулы разного диаметра белковой, белково-липидной и белково-углеводной природы, которые интенсивно и слабо окрашиваются по описанным выше методикам в синий с фиолетовым оттенком и голубой с различными оттенками, что характерно для веществ белковой природы. Реактивом Шиффа и кармином по Бэсту гранулы окрашиваются в красный, темно-красный, ярко-красный с различными оттенками, что характерно



Эпителиальные клетки кишечника клеща:

1 — личинка; *2—4* — протонимфа; *5—7* — протохризолида; *бв* — белковые вещества; *бл* — белково-липидные вещества; *бу* — белково-углеводные вещества; *бм* — базальная мембрана; *мв* — мышечные волокна; *вк* — вакуоли с секретом; *рк* — резервные клетки; *пк* — пищеварительные клетки; *ск* — секреторные клетки; *я* — ядра с ядрышками.

для веществ белково-углеводной природы. Кроме белково-углеводных гранул в вакуолях пищеварительных клеток выявлены белково-липидные пищевые гранулы, которые окрашиваются суданом черным в черно-серый и серый цвета, а изредка в черный. Однако в вакуолях базальной части пищеварительной клетки выявлены скопления гранул гликопротеидов и мукополисахаридов (рисунок, *2—4*).

Просвет кишечника протонимфы заполнен отшнуровавшимися эпителиальными клетками и их фрагментами. Границы между клетками

выражены нечетко. Цитоплазма их неплотная, незернистая, слабо вакуолизирована, неинтенсивно окрашена. Вакуоли клеток заполнены гранулами, которые, вероятно, являются пищевыми запасами белковой, белково-липидной и белково-углеводной природы. Интенсивность окраски этих гранул не отличается от таковой гранул пищеварительных клеток. Белково-углеводные гранулы в отличие от белковых и белково-липидных сконцентрированы не только в эпителиальных клетках кишечника, но и в паранхиматозных, нейросекреторных клетках и в мышечных тканях.

Изучение серий гистологических срезов кишечника протохризолиды показало, что на стенках базальной мембраны кишечника, как и у протонимф, расположены три типа эпителиальных клеток. Секреторные эпителиальные клетки единичные и не отличаются от секреторных клеток протонимфы. Пищеварительные клетки эпителия кишечника в зависимости от функционального состояния и места локализации имеют цилиндрическую или колбовидную форму (высота их от 12,4 до 37,5 мкм). Апикальные и центральные части некоторых клеток расширены и содержат вакуоли разного диаметра. В большинстве клеток крупные вакуоли заполнены секретом и гранулами белковой, белково-липидной и белково-углеводной природы. Небольшое количество эпителиальных клеток кишечника в процессе переваривания пищи отшнуровывается в просвет. Пищевых гранул в этих клетках содержится меньше, чем в пищеварительных, прикрепленных к стенкам базальной мембраны. Гранулы белковой, белково-липидной и белково-углеводной природы по интенсивности окраски ничем не отличаются от гранул пищеварительных клеток личинки и протонимфы. Пищеварение у протохризолиды проходит в основном так же, как у протонимф. В эпителиальных клетках кишечника протохризолиды сохраняется большое количество запасных питательных веществ и гранул, которые остаются в пищеварительных клетках, прикрепленных к стенкам базальной мембраны, и в клетках эпителия, отшнуровавшихся в просвет кишечника протонимфы. Однако у протохризолид происходит интенсивное накопление большого количества белково-липидных и белково-углеводных веществ, сконцентрированных в пищеварительных клетках и в отторгнутых клетках эпителия, чего не наблюдалось у протонимфы. В отличие от протонимф у протохризолид на стенках базальной мембраны происходит интенсивный рост резервных клеток эпителия. Последние имеют плоскую форму, плотную, зернистую, вакуолизированную мелкими вакуолями цитоплазму. Границы между клетками выражены четко. Ядра с ядрышками овальные, вздутые, расположены в центре клетки, окрашены. Просвет кишечника у протохризолиды, как у личинки и протонимфы, заполнен отшнуровавшимися клетками эпителия и их фрагментами. Вакуоли этих клеток заполнены гранулами белковой, белково-липидной и белково-углеводной природы, которые ничем не отличаются от гранул, обнаруженных у личинок и протонимф (рисунок, *5—7*).

Обсуждение результатов. Полученные нами данные о гистологическом строении кишечного эпителия у личинок, протонимф и протохризолид клеща *V. jacobsoni* в общем согласуются с имеющимися в литературе сведениями. У них обнаружены клетки трех типов: секреторные, пищеварительные и резервные, которые имеют цилиндрическую, колбовидную или изредка плоскую форму. Соотношение количества клеток разных типов зависит от стадии пищеварения, поэтому у голодных особей в основном преобладают секреторные клетки, а пищеварительные и резервные немногочисленны; у сытых личинок, протонимф и протохризолид преобладают пищеварительные и резервные клетки. Однако морфологические различия этих клеток носят непостоянный характер и зависят от функционального состояния клеток эпителия кишечника и от времени переваривания пищи. В секреторных и пищеварительных клетках эпителия начинается интенсивный синтез пищеварительных ферментов и накопление в вакуолях большого количества секрета, в резуль-

тате чего происходит слияние мелких вакуолей в более крупные, которые в основном заполняют апикальную и центральную части клетки. В связи с накоплением большого количества секрета в апикальной и центральной частях клетки, они отрываются от базальной части в просвет кишечника, и пища смешивается с пищевыми включениями и секретом клетки. В процессе переваривания пищи в вакуолях пищеварительных клеток накапливается большое количество секрета, что приводит к слиянию мелких вакуолей в крупные и формированию на их месте гранул различного диаметра белковой, белково-липидной и белково-углеводной природы. Вероятно, внутриклеточное переваривание этих гранул идет несинхронно во всех вакуолях одной пищеварительной клетки, поскольку в цитоплазме встречаются гранулы с различной плотностью и интенсивностью окраски. Необходимо также отметить, что с началом внутриклеточного пищеварения гранулы белковой, белково-липидной и белково-углеводной природы в вакуолях пищеварительных клеток не появляются и по окончании переваривания всех гранул пищеварительные клетки подвергаются дегенерации.

В морфо-функциональном состоянии эпителиальных клеток кишечника личинок и нимф иксодовых, аргасовых клещей и исследованных нами личинок, протонимф и протохризолид *V. jacobsoni* наблюдаются различия общего характера. Для личинок, протонимф и протохризолид *V. jacobsoni* характерно образование пищевых включений в пищеварительных клетках. Однако большая скорость переваривания пищи связана с коротким периодом превращения личинки в протонимфу и протонимфы в протохризолиду. В пищеварительных клетках протонимфы содержится большое количество запасных питательных веществ, оставшихся в пищеварительных клетках личинки, что характерно для иксодовых и аргасовых клещей (Балашов, 1957; Балашов, Рейхель, 1976, 1978). В процессе переваривания пищи у протонимфы и протохризолиды *V. jacobsoni* небольшое количество эпителиальных клеток кишечника быстро отторгается в просвет кишечника, и в результате этого пища смешивается с пищевыми включениями и секретом клетки. Эпителиальные клетки, прикрепленные к стенкам базальной мембраны, претерпевают дегенеративные изменения. У нимф аргасовых клещей в просвет кишечника отторгаются лишь апикальные части клеток эпителия вместе с цитоплазматическими включениями, а сохранившиеся части клетки дегенерируют (Балашов, 1957; Балашов, Рейхель, 1978). У нимф иксодовых клещей происходит интенсивное разрушение секреторных и пищеварительных клеток, их содержимое выходит в просвет кишечника, а часть оставшихся клеток сперва отторгается и лишь затем подвергается дегенерации (Балашов, 1957; Балашов, Рейхель, 1976).

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что для личинок, протонимф и протохризолид клеща *V. jacobsoni* в период пищеварения характерно наличие циклических изменений эпителиальных клеток кишечника, а именно: отдельные клетки эпителия находятся на разных фазах активности. Важно также отметить, что в период развития протонимф и протохризолид в их кишечнике происходит переваривание поступившей пищи и накопление запасных питательных веществ. После линьки личинки в протонимфу или протонимфы в протохризолиду кишечный эпителий в основном состоит из пищеварительных и резервных клеток от предшествующей стадии, заполненных гранулами белковой, белково-липидной и белково-углеводной природы. Необходимо отметить, что внутриклеточное переваривание пищи, по-видимому, представляет главный способ пищеварения у личинок, протонимф и протохризолид *V. jacobsoni*. Можно сказать, что каждая эпителиальная клетка кишечника у клещей *V. jacobsoni* последовательно выполняет функции секреции, пищеварения и всасывания.

Окончание см. с. 87

Критика и библиография

Деятели науки

Информация и хроника

Окончание. Начало см. с. 51.

Акимов И. А., Старовир И. С. Строение пищеварительной системы клеща Varroa jacobsoni — паразита медоносной пчелы.— Вестн. зоологии, 1983, № 3, с. 51—57.
Балашов Ю. С. Гистологические особенности пищеварения у иксодовых и аргазовых клещей.— Паразитол. сб / АН УССР, Зоол. ин-т, 1957, **17**, с. 137—167.
Балашов Ю. С., Райхель А. С. Ультратонкое строение эпителия среднего отдела кишечника нимф клеща Hyalomma asiaticus (Acarina, Ixodidae) во время питания.— Паразитология, 1976, **10**, № 3, с. 201—208.
Балашов Ю. С., Райхель А. С. Ультратонкое строение среднего отдела кишечника нимф Ornithodoros papillipes (Acarina, Argasidae) в период усвоения крови.— Там же, 1978, **12**, № 1, с. 21—25.
Кононский А. А. Гистохимия.— Киев : Выс. шк., 1976.— 275 с.
Пирс Э. Гистология.— М. : Изд-во иностр. лит., 1962.— 944 с.
Ромейс Б. Микроскопическая техника. — М. : Изд-во иностр. лит., 1954.— 580 с.
Роскин Г. И., Левенсон Л. Б. Микроскопическая техника.— М. : Сов. наука, 1957.— 468 с.

Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена
АН УССР

Получено 07.04.83